

Título del Trabajo: Síntesis de conjugados de polisacáridos capsulares de *Streptococcus pneumoniae* a toxoide tetánico (TT) vía reacciones click catalizadas mediante novedosas nanopartículas de cobre.

Nombre: Dayan Viera Barredo, dvierab94@gmail.com

Instituto Finlay de Vacunas, Dpto de Glicoconjugación

Dayan Viera Barredo, Julieth Bravo, Claudia Iriarte, Yanira Mendez Gómez, Raine Garrido Arteaga, Barbara Baró Bicet, Dagmar García Rivera, Daniel García Rivera, Vicente Vérez Bencomo.

RESUMEN

Streptococcus pneumoniae es una de las causas fundamentales de neumonía, meningitis, otitis y sepsis a nivel mundial. La principal estrategia para prevenir estas enfermedades se basa en la inmunización con vacunas conjugadas, donde el polisacárido capsular (PsC) se encuentra enlazado covalentemente a un portador, generalmente una proteína. Estas vacunas logran inducir potentes respuestas inmunes y generan memoria inmunológica frente a la bacteria. En la actualidad se busca mejorar las propiedades farmacológicas de los conjugados utilizando metodologías de conjugación más efectivas que permiten obtener conjugados sin polisacárido libre, problemática que afecta la efectividad de la formulación generando una mezcla de respuesta inmune de tipo IgG y IgM. La familia de reacciones que nos brinda esa facilidad y efectividad de conjugación son las reacciones click. En nuestro caso escogimos como modelo la cicloadición 1,3 dipolar de azida-alquino catalizada con cobre (Cu), dado que se conoce como la reacción click clásica y ha sido ampliamente estudiada. Mediante la funcionalización de la proteína con grupos azida y el polisacárido capsular con grupos alquinos, fuimos capaces de llevar a cabo su conjugación mediante la catálisis clásica con sulfato de cobre (CuSO₄) y ascorbato de sodio (NaAsc), y metodologías basadas en novedosos catalizadores de nanopartículas tipo core Shell de Cobre y Hierro (Cu@Fe NP) y nanopartículas de hierro unidas covalentemente a un complejo de cobre (I), que es la especie catalizadora. Los conjugados obtenidos se caracterizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución y métodos colorimétricos. Se comprobó la identidad y antigenicidad de los conjugados obtenidos mediante técnicas como RMN-¹H

cuantitativo y DotBlot. Los conjugados son inmunogénicos, e inducen una respuesta inmune de tipo IgG similar a la generada por los conjugados a TT. Este trabajo constituye el primer reporte del empleo de novedosos sistemas de catálisis basados en nanopartículas de la reacción click, cicloadición 1,3 dipolar azida-alquino.

ABSTRACT

Streptococcus pneumoniae is one of the fundamental causes of pneumonia, meningitis, otitis and sepsis worldwide. The main strategy to prevent these diseases is based on immunization with conjugate vaccines, where the capsular polysaccharide (PsC) is covalently linked to a carrier, usually a protein. These vaccines manage to induce powerful immune responses and generate immunological memory against the bacteria. Nowadays, the main aim is to improve the pharmacological properties of the conjugate is using more effective conjugation methodologies that allow to obtain conjugates without free polysaccharide, a problem that affects the effectiveness of the formulation generating a mixture of immune response of IgG and IgM type. The type of reactions that gives us that ease and effectiveness of conjugation are the click reactions. In our case, we chose as a model 1,3-dipolar cycloaddition of copper-catalyzed azide-alkyne (Cu), since it is known as the classic click reaction and has been widely studied. By functionalizing the protein with azide groups and the capsular polysaccharide with alkyne groups, we were able to carry out their conjugation by classical catalysis with copper sulfate (CuSO₄) and sodium ascorbate (NaAsc), and methodologies based on novel catalysts of core Shell nanoparticles of Copper and Iron (Cu@Fe NP) and iron nanoparticles covalently linked to a copper (I) complex, which is the catalyst specie. The conjugates obtained were characterized by high performance liquid chromatography and colorimetric methods. The identity and antigenicity of the conjugates obtained by means of techniques such as quantitative ¹H-NMR and DotBlot were verified. The conjugates are immunogenic, and induce an immune response of IgG type similar to that generated by conjugates to TT. This work constitutes the first report of the use of novel catalysis systems based on nanoparticles of the click reaction, 1,3-dipolar azide-alkyne cycloaddition.